

Dissertação para a obtenção do grau de mestre em Biologia da Conservação

Universidade de Évora

Estudo da mortalidade de anfíbios em duas estradas rurais próximas: efeito do tráfego rodoviário



Ana Rodrigues

Orientador: Prof. Doutor Paulo Sá Sousa

Évora, Março de 2008

Esta dissertação não inclui as críticas e sugestões feitas pelo júri

Dissertação para a obtenção do grau de mestre em Biologia da Conservação

Universidade de Évora

**Estudo da mortalidade de anfíbios em duas estradas
rurais próximas: efeito do tráfego rodoviário**

**Study of the amphibian mortality on two near rural
roads: the effect of road traffic**

Ana Rodrigues



171340

Orientador: Prof. Doutor Paulo Sá Sousa

Évora, Março de 2008

Esta dissertação não inclui as críticas e sugestões feitas pelo júri

Índice

<u>Resumo</u>	1
<u>Abstract</u>	2
<u>Introdução</u>	3
Fragmentação de biótopos.....	3
Ecologia das estradas.....	5
<u>Material e métodos</u>	9
Área de estudo	9
Espécies potenciais.....	10
Metodologia de amostragem.....	13
Tratamento estatístico	15
<u>Resultados</u>	17
<u>Discussão</u>	20
<u>Referências Bibliográficas</u>	23
<u>Anexo</u>	27

Resumo

As rodovias podem contribuir para a diminuição de populações de anfíbios de várias formas, sendo a mais visível a mortalidade por atropelamento. Neste trabalho procurou-se observar a forma como o tráfego pode afectar a mortalidade de anfíbios. A recolha de dados foi efectuada em duas estradas rurais próximas onde foram registadas as espécies observadas e se estas estavam vivas ou mortas, entre outros. Os resultados comprovaram não haver diferenças significativas em relação ao número de indivíduos ou à proporção das espécies que atravessam as vias e confirmaram que uma das estradas possui uma percentagem de mortalidade muito superior à outra. Os testes estatísticos também revelaram existir uma diferença significativa entre o tráfego nas duas estradas. Desta forma, na estrada com mais trânsito foi observado um número muito superior de mortos. Foi, portanto, possível relacionar os resultados e concluir que os anfíbios são negativamente afectados pela intensidade do trânsito rodoviário.

Palavras-chave: anfíbios, estradas, tráfego, mortalidade rodoviária.

Abstract

The roads can contribute to the amphibian populations decline in many ways, being the most visible the roadkills. The purpose of this study was to observe how the traffic can affect the amphibian mortality. The data collection was conducted in two rural roads, near to each other, where the species observed were recorded, and if they were alive or dead, among other information. The results showed no significant differences in the number of individual or in the proportion of species that cross the roads and confirmed that one of the road has a much higher mortality percentage than the other. Statistical tests also revealed a significant difference between the traffic of the two roads. Thus, on the road with more traffic was observed a much higher number of deaths. It was therefore possible to relate the results and conclude that the amphibians are negatively affected by the traffic intensity.

Keywords: amphibians, roads, traffic, roadkills.

Introdução

Quer de uma forma directa como indirecta, todos os ecossistemas naturais no planeta sofreram alguma alteração provocada pelo homem, muitas espécies extinguiram-se prematuramente, os ciclos hidrológicos e químicos sofreram interrupções, a diversidade genética diminuiu, inclusivamente o clima da Terra foi afectado (Groom *et al.*, 2006). Um grupo que se tem revelado particularmente vulnerável a estas mudanças são os anfíbios. Algumas espécies já desapareceram, outras deixaram de ser encontradas nos locais habituais e tem-se verificado um aumento do número de indivíduos com malformações. Desde 1950, as populações diminuíram mais de 50% a nível mundial, e durante a década de 1960 o declínio era de cerca de 15% por ano (Roy, 2002). Estudos têm mostrado que estas populações estão a sofrer uma diminuição do número de indivíduos, não só em habitats directamente influenciados pelo homem, como também em habitats prístinos (Wind, 1999; Gardner, 2001). Deste modo, têm sido referidos diversos factores como causas para este decréscimo, dos quais é possível referir as radiações ultravioletas, os poluentes químicos, a predação ou competição com espécies exóticas e as alterações climáticas (Lich & Grant, 1997; Gardner, 2001; Blaustein & Kiesecker, 2002). Contudo, são as alterações físicas do habitat que são consideradas as principais responsáveis não só pelo declínio dos anfíbios como também da biodiversidade no geral (Gardner, 2001). Destas, a destruição e fragmentação do habitat pode ser um dos principais factores responsáveis pela diminuição e desaparecimento das populações de anfíbios nas regiões industrializadas (Vos & Chardon, 1998).

Fragmentação de biótopos

A perda de habitat e o isolamento associados à transformação dos terrenos para actividades humanas, constituem a maior ameaça à diversidade biológica do nosso planeta (Collinge, 1996). A fragmentação dos habitats implica uma divisão de áreas contínuas em fragmentos de menores dimensões e mais dispersos, o que pode ter diversos efeitos nas populações, através de uma redução da área de habitat favorável para as espécies e da diminuição da conectividade entre

fragmentos (Andren, 1994; Young *et al.*, 1996; Iuell *et al.*, 2003). Com o aumento do grau de fragmentação e a subsequente redução da área dos fragmentos de habitat favorável, estes podem tornar-se demasiado pequenos e isolados para suportar populações viáveis, levando assim à diminuição do tamanho destas (Andren, 1994; Young *et al.*, 1996; Seiler, 2001; Iuell *et al.*, 2003). Por este motivo, geralmente, verifica-se um declínio da riqueza específica com a diminuição da área. O tamanho do novo fragmento também influencia fortemente os processos ecológicos que nele ocorrem, em grande parte devido a alterações produzidas nas suas margens, que sofrem mudanças (por exemplo, microclimáticas) que podem influenciar significativamente as comunidades de plantas e animais (Collinge, 1996). Outra consequência do aumento da fragmentação dos habitats é o isolamento pois, a interrupção dos habitats contínuos, geralmente, também resulta num aumento do tamanho da fronteira entre os fragmentos e os habitats circundantes (Collinge, 1996). Quanto mais isoladas estas áreas estiverem entre elas, menor a probabilidade dos indivíduos das populações conseguirem passar de umas para as outras. Havendo pouca conectividade e sendo os indivíduos incapazes de se movimentarem entre fragmentos, ficando as espécies mais vulneráveis a extinções locais e regionais (Iuell *et al.*, 2003). Sendo os anfíbios animais que, geralmente, realizam migrações, a fragmentação de habitats e a consequente interrupção da dispersão dos indivíduos pode ter graves consequências, afectando as suas deslocações e, por isso a sua reprodução (Gardner, 2001; Hels & Buchwald, 2001).

Nos países desenvolvidos é possível encontrar uma relação entre os diversos efeitos da fragmentação dos habitats e o aumento do número de vias rodoviárias. Sendo estas um tipo de alteração de habitats que tem contribuído para o declínio das populações de anfíbios e de outros animais (Gardner, 2001). As rodovias fragmentam o habitat, aumentam o efeito de barreira e provocam uma grande mortalidade de vertebrados. Apesar das percentagens de atropelamentos serem elevadas para diversos grupos de animais, os anfíbios são os que mais sofrem com este factor (Puky, 2005; Ascensão & Mira, 2006), englobando 70% a 80% da mortalidade global (Hels & Buchwald, 2001; Ascensão & Mira, 2006).

Ecologia das estradas

As redes de estradas ramificam-se pela Terra, e surgem como as criações antrópicas mais penetrantes na paisagem natural, afectando os seres vivos de diversas formas directas e indirectas (Forman & Alexander, 1998). A fase de construção da via, afecta o ambiente envolvente através da necessidade de limpar, nivelar e cortar. Desta forma, estes trabalhos alteram a densidade do solo e o fluxo da água superficial e subterrânea, o que por sua vez pode afectar ecossistemas, vegetação e fauna. A manutenção das rodovias e o tráfego agravam o efeito de orla no ambiente envolvente através de factores como o ruído e a poluição (Seiler, 2001). O ruído é considerado um dos principais factores poluentes dos ambientes naturais europeus, afectando especialmente aves (Forman & Alexander, 1998; Seiler, 2001; Donaldson & Bennet, 2004). Relativamente à poluição, a maior parte dos poluentes são acumulados na vizinhança mais próxima da estrada, mas não é raro estes serem transportados longas distâncias. Estes alteram a química do solo, afectam ecossistemas ripícolas, e os metais pesados espalham-se e podem ser acumulados por plantas e animais, o que pode ter consequências na reprodução e sobrevivência destes (Forman & Alexander, 1998; Seiler, 2001). Para além destes dois factores existem outros tipos de perturbações ligadas ao tráfego nas vias, por exemplo, em certos casos a iluminação pode alterar o comportamento de rãs nocturnas (Forman & Alexander, 1998). Contudo, o efeito de barreira é, possivelmente, a pior consequência das rodovias (Iuell *et al.*, 2003). Todas as estradas constituem barreiras ou filtros à passagem de animais. As principais características destas que determinam o grau de barreira são a sua largura e a densidade do seu tráfego. A barreira causada por estas infra-estruturas interrompe e altera processos naturais como o fluxo de água subterrâneas, a dispersão de plantas e o movimento animal. Este efeito na fauna resulta de uma combinação das perturbações, impedimentos físicos, comportamentos de evitação e mortalidade por atropelamento. Apesar de muitas vezes não bloquear completamente os movimentos das espécies, este reduz significativamente o número de indivíduos que atravessam a via com sucesso. Dependendo do número de passagens com sucesso relativamente ao tamanho da população, o efeito de barreira pode ser significativo para a dinâmica, demografia ou genética da população. Se o efeito de barreira não é muito marcado e os indivíduos da espécie em causa conseguem

atravessar a estrada com frequência, as populações continuam a funcionar como uma unidade. Porém, se o atravessamento com sucesso é muito reduzido ou inexistente, as populações podem acabar por divergir relativamente à densidade, recrutamento ou mortalidade (Seiler, 2001). O efeito de barreira pode, deste modo, levar à criação de metapopulações. Estas populações menores têm uma maior probabilidade de extinção do que uma grande população, estando mais vulneráveis a fenómenos estocásticos (Forman & Alexander, 1998; Wind, 1999; Hels & Buchwald, 2001). Se este efeito de barreira persistir durante muitas gerações, pode mesmo levar a alterações genéticas (Forman & Alexander, 1998; Wind, 1999).

Uma consequência das rodovias que contribui para o efeito de barreira é a mortalidade por atropelamento. A quantidade de animais que morrem por colisões é muito elevada, e para além destes há que considerar que muitos outros embora não morram na via ficam gravemente feridos (Forman & Alexander, 1998; Seiler, 2001; Iuell *et al*, 2003). Existem diversas características inerentes às espécies de anfíbios que podem influenciar muito a sua mortalidade na estrada, tais como os seus padrões de actividade diária. Muitas das espécies de anfíbios realizam migrações sazonais, para as áreas de reprodução, de deposição de ovos ou de hibernação, isto leva a que nestas épocas exista uma maior probabilidade destes animais atravessarem a estrada e um maior número de atropelamentos (Puky, 2005; Ascensão & Mira, 2006). O aumento da distância entre o ambiente aquático e o terrestre, faz com que estes animais necessitem de percorrer distâncias mais longas, havendo uma maior probabilidade de encontrarem rodovias no seu percurso. Por este motivo, as populações locais têm uma maior probabilidade de sobrevivência se houver uma maior densidade de habitat favorável (Silva & Marques, 2007). É possível aplicar o mesmo raciocínio quando se fala da mobilidade diária das espécies. As que apresentam uma maior dispersão diária percorrem distâncias maiores, aumentando a probabilidade de encontrarem rodovias (Carr & Fahrig, 2000).

A probabilidade de atropelamento também varia consoante o tipo de locomoção do anfíbio, aumentando quando as deslocações dos indivíduos são mais lentas (Hels & Buchwald, 2001; Puky, 2005). No estudo efectuado por Hels & Buchwald (2001), os resultados mostraram que as espécies de salamandras, devido à sua locomoção mais lenta, tinham uma probabilidade de serem

atropeladas muito superior à das espécies de rãs, mais rápidas. Mas para além da velocidade de movimentação, também é relevante a forma como os animais atravessam a via. Se em vez de percorrerem a via na perpendicular, a atravessarem na diagonal, têm uma maior distância a percorrer e por isso permanecerão mais tempo na estrada, aumentando a probabilidade de serem atropelados (Hels & Buchwald, 2001). A abundância de uma espécie também é relevante quando se procura saber qual o impacto da mortalidade rodoviária nas populações locais. É compreensível que espécies mais abundantes, com uma maior taxa de reprodução, que vivam nas proximidades de rodovias sofram maiores níveis de mortalidade (Forman & Alexander, 1998; Seiler, 2001; Santos *et al.*, 2007). Porém, isto não significa que estas sejam seriamente afectadas pelo tráfego. Se a taxa de mortalidade não for superior às taxas de natalidade e imigração destas populações, estas manter-se-ão estáveis. Por outro lado, espécies cujo efectivos populacionais sejam reduzidos e cuja taxa de reprodução é menor, podem sofrer um maior impacto pelo tráfego, mesmo que sofram menos atropelamentos do que a espécie mais abundante (Forman & Alexander, 1998; Seiler, 2001). Estudos mostram que a mortalidade nas estradas pode, em certos casos, ser o suficiente para levar à diminuição de populações locais (Gibbs & Shriver, 2005).

Para além das características das espécies, existem diversas características das rodovias que podem ter influência nas taxas e padrões de mortalidade dos anfíbios. A topografia pode ser condicionante relativamente à capacidade dos anfíbios atingirem a via e à sua capacidade para atravessar a estrada, havendo por isso, uma tendência para os animais atravessarem as estradas em zonas niveladas com os terrenos circundantes, e que requerem um menor custo de locomoção. A proximidade de localidades também pode ser relevante, no sentido em que zonas mais urbanizadas apresentam uma maior densidade de vias e uma maior intensidade de tráfego, o que leva, geralmente, a níveis mais elevados de mortalidade. Outro factor cuja forma como afecta a mortalidade é facilmente compreensível é a largura da estrada. Quanto maior a largura da via, maior a distância que os animais têm de percorrer até chegar à outra berma, o que faz com que estes passem mais tempo na estrada, havendo por isso uma maior probabilidade de atropelamento (Silva & Marques, 2007). Também é relevante referir atributos da paisagem como os tipos de solos e a presença, distribuição e proximidade de massas de água. A diversidade e distribuição dos anfíbios está

relacionada com o tipo de habitat e, consequentemente, com a composição e estrutura da paisagem, tal como pelos tipos de uso do solo. Assim, a distribuição de massas de água ou de habitats favoráveis pode ter influência sobre o atravessamento de rodovias. Santos *et al.* (2007) mostraram que a diferença no número de *Bufo bufo* mortos nas diferentes estradas se devia também à qualidade dos charcos na vizinhança das vias. Outros estudos mostram também que a vegetação junto das estradas pode ter uma grande influência na mortalidade de anfíbios (Seiler, 2001; Puky, 2005). Segundo Ascensão (2001) foi registada uma maior mortalidade de anfíbios em áreas arborizadas do que em zonas de pousios ou pastagens, com uma cobertura arbórea reduzida. A mortalidade destes animais também tem tendência a permanecer elevada durante todo o ano, quando as rodovias atravessam habitats de zonas húmidas (Puky, 2005).

De uma forma geral, o tráfego rodoviário constitui uma grande ameaça para os anfíbios devido à sua locomoção lenta e à sua incapacidade de detectar o perigo das viaturas a tempo de as evitar. Muitas vezes estes animais ficam imobilizados nos momentos de perigo, o que faz com que permaneçam ainda mais tempo nas vias (Puky, 2005). Diversos estudos mostram que o tráfego exerce um efeito negativo nas populações de anfíbios, e que em estradas com um nível maior de trânsito a proporção de mortos é maior (Kobylarz, sem data; Fahrig *et al.*, 1995; Carr & Fahrig; 2000; Hels & Buchwald, 2001; Santos *et al.*, 2007). Porém, Hels & Buchwald (2001), mostraram que a probabilidade de um anfíbio ser morto ao atravessar a estrada só aumenta até um certo valor de tráfego a partir do qual a probabilidade de ser atropelado é constante.

Considerando a informação referida anteriormente, o objectivo deste trabalho pretende verificar como o tráfego rodoviário pode afectar a mortalidade de anfíbios na estrada. Deste modo, procurou-se comparar as proporções de animais vivos e mortos em duas estradas rurais, muito próximas uma da outra e assim tentar relacionar as suas diferenças de mortalidade somente com base na intensidade do tráfego.

Material e métodos

Área de estudo

Este estudo foi efectuado na Herdade da Mitra, em Valverde (38°31'46.74"N; 8° 0'46.39"W), no distrito de Évora (figura 1). Esta área de cerca de 77,5ha está compreendida entre os 195 e os 300m de altitude. Possui zonas com edificações mas apresenta-se maioritariamente coberta por montado com sobreiros (*Quercus suber*) e azinheiras (*Quercus rotundifolia*). As densidades de cobertura arbórea ou arbustiva variam, existindo zonas de montado muito densas, de montado pouco densas e zonas abertas com herbáceas (figura 1). Na herdade é possível encontrar charcos temporários e permanentes, alguns dos quais com origem em pequenas pedreiras, cursos de água temporários e um curso de água permanente, a ribeira de Valverde (Dias, 2008).

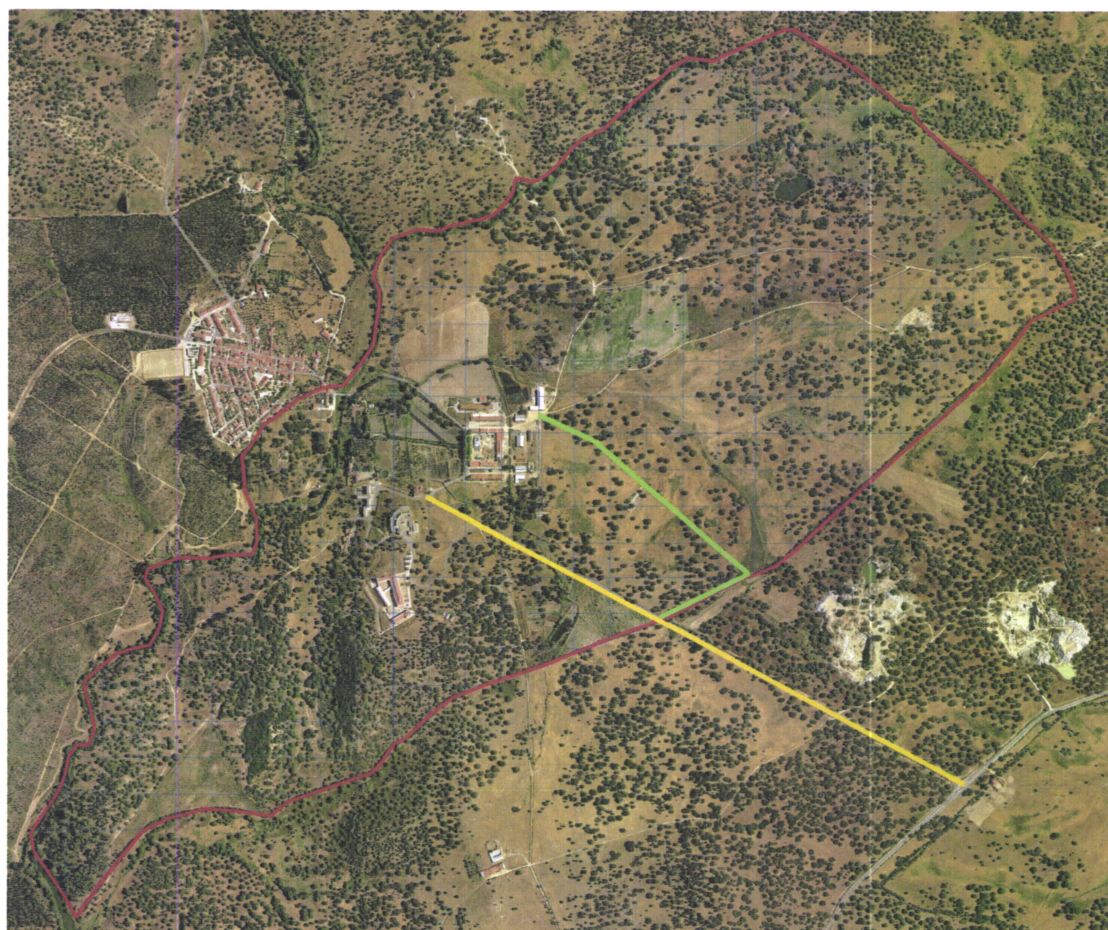


Figura 1 – Mapa da região de Valverde com a delimitação da Herdade da mitra (—) e indicação dos troços de estradas em estudo (A- — ; B- —)

Os solos existentes neste terreno são, principalmente, solos líticos com afloramentos rochosos graníticos, que podem ou não ter associada vegetação arbórea ou arbustiva. Próximo das linhas de água é possível verificar a existência de bandas de solos aluviais (Barata & Mascarenhas, 2002).

As temperaturas médias do ar variam entre os 7°C, durante o Inverno, e os 30°C, durante o verão, os níveis de precipitação variam entre os 40 e 300mm e os de insolação entre 150 e 355h/ano (IMG, 2005).

Espécies potenciais

As espécies existentes na Herdade da Mitra e, por isso, possíveis de encontrar aquando da realização deste trabalho estão enunciadas na seguinte tabela (tabela 1):

Tabela 1 – Espécies de anfíbios presentes na Herdade da Mitra e o seu estatuto de conservação (Malkmus, 2004; Cabral et al., 2006; Loureiro et al., 2008).

Nome Específico	Nome comum	Categoria de ameaça (IUCN)
<i>Salamandra salamandra</i>	Salamandra-de-pintas-amarelas	LC
<i>Pleurodeles waltl</i>	Salamandra-de-costelas-salientes	LC
<i>Triturus pygmaeus</i>	Tritão-pigmeu	NT
<i>Lissotriton boscai</i>	Tritão-de-ventre-laranja	LC
<i>Bufo bufo</i>	Sapo-comum	LC
<i>Bufo calamita</i>	Sapo-corredor	LC
<i>Pelobates cultripes</i>	Sapo-de-unha-negra	LC
<i>Alytes cisternasii</i>	Sapo-parteiro	LC
<i>Discoglossus galganoi</i>	Rã-de-focinho-pontiagudo	NT
<i>Hyla meridional</i>	Rela-meridional	LC
<i>Hyla arborea</i>	Rela-comum	LC
<i>Rana perezi</i>	Rã-verde	LC

De seguida estão enunciadas algumas das suas características, tais como o habitat, período anual de actividade, época de reprodução, fecundidade e alimentação (tabela 2).

Tabela 2 – Características das espécies existentes na Herdade da Mitra (Almeida et al., 2001; Malkmus, 2004; Rebollo et al, 2006; Loureiro et al., 2008).

Espécie	Habitat	Período anual de actividade	Reprodução	Maturidade sexual e fecundidade
<i>Salamandra salamandra</i>	Locais de humidade elevada, zonas montanhosas sombrias, lameiros, prados, campos agrícolas, pinhais, azinhais e sobreirais.	Actividade predominante nocturna. Activa nos períodos de maior humidade, normalmente entre Setembro e Maio, podendo estar inactiva nos meses mais frios.	Podem existir 1 ou 2 picos de reprodução, no Outono e/ou Primavera. Espécie ovovívpara ou vivípara.	Demoram 3 a 5 anos a atingir a maturidade sexual. Geralmente são depositadas entre 20 e 40 larvas.
<i>Pleurodeles waltl</i>	Regiões de clima quente e seco, em zonas de baixa e média altitude. Em massas de água parada ou pouco corrente de dimensão moderada. Chegam a permanecer todo o ano na água.	Actividade predominantemente nocturna ou crepuscular. Activa todo o ano, podendo apresentar períodos de estivação e inactividade.	Varia entre Setembro e Julho, consoante a região geográfica. O acasalamento ocorre na água.	Demoram 1 a 5 anos a atingir a maturidade sexual. Postura pode ter entre 150 e 1300 ovos
<i>Triturus pygmaeus</i>	Grande variedade de habitats, desde que existam nas proximidades de massas de água adequadas para a reprodução.	Activas durante todo o ano, podendo apresentar um período de estivação nos meses de verão.	A reprodução ocorre desde os finais do Outono até ao final da Primavera.	Demoram 1 a 4 anos a atingir a maturidade sexual. Postura pode ter entre 150 e 400 ovos
<i>Lissotriton boscai</i>	Grande variedade de habitats, incluindo prados, bosques e zonas agrícolas. Pode usar ribeiros de vegetação abundante e corrente fraca, charcos, poços, lagoas, tanques, represas e albufeiras.	Actividade predominantemente nocturna, mas na fase aquática também é diurna. Pode passar por períodos de inactividade invernal e estival.	Geralmente ocorre entre Novembro e Junho, mas varia muito consoante a latitude e a altitude.	Demoram 2 a 3 anos a atingir a maturidade sexual. Postura pode ter entre 100 a 240 ovos
<i>Bufo bufo</i>	Grande variedade de habitats, incluindo áreas agrícolas, zonas de montanha, montados e bosques de caducifólias. No período de reprodução utiliza massas de água permanentes, nomeadamente rios de pequenos e médio tamanho, albufeiras e charcos.	Actividade predominantemente nocturna e crepuscular, mas em dias húmidos e chuvosos também pode apresentar actividade diurna. Em clima temperados pode estar activo todo o ano.	A reprodução ocorre entre Novembro e Abril, embora nas zonas mais frias se inicie apenas em finais do Inverno. O amplexo é axilar e ocorre, normalmente, dentro de água	Os machos demoram 3 anos a atingir a maturidade sexual, e as fêmeas 4. Postura pode ter entre 2000 e 8000 ovos.
<i>Bufo calamita</i>	Grande variedade de habitats, desde zonas costeiras até zonas de alta montanha, mas especialmente em locais abertos com solos poucos compactados. Durante a reprodução encontra-se preferencialmente em charcos temporários pouco profundos e no resto do ano permanecem debaixo de pedras e troncos ou refúgios que escavam.	Actividade predominantemente nocturna, embora também apresente actividade crepuscular. Na época de reprodução também apresenta actividade diurna. Activa todo o ano com excepção do início do Inverno.	Período de reprodução muito variável mas geralmente vai desde o Inverno até finais da Primavera ou verão.	Demoram cerca de 2 anos a atingir a maturidade sexual. Postura pode ter até 4000 ovos.

<i>Pelobates cultripes</i>	Habitats de solo pouco compactado, zonas arenosas, dunas, campos de cultivo, pastagens e zonas planálticas. Durante a reprodução pode encontrar-se em charcos temporários relativamente extensos e profundos, com vegetação abundante.	A actividade anual pode variar, podendo estar activo todo o ano ou podendo passar por um período de hibernação ou estivação.	Reprodução ocorre geralmente entre meados de Outubro e meados da Primavera, mas pode variar consoante a latitude e está dependente da ocorrência de precipitação.	Demoram cerca de 3 anos a atingir a maturidade sexual. Postura pode ter até 6000 ovos.
<i>Alytes cisternasii</i>	Adaptada a ambientes áridos e quentes, ocupa zonas de baixa e média altitude. Encontram-se em zonas de solos arenosos ou pouco consistentes, abertas e planas. Enterra-se em taludes entre as raízes das plantas ou debaixo de pedras, na proximidade de massas de água.	Actividade predominantemente nocturna, mas em dias nublados ou chuvosos também pode apresentar actividade diurna. Pode ter vários períodos de inactividade durante os meses com temperaturas mais extremas.	A reprodução ocorre no Outono e Primavera. O amplexo é inguinal e ocorre em terra.	Demoram 1 a 2 anos a atingir a maturidade sexual. Postura pode ter entre 20 e 60 ovos
<i>Discoglossus galganoi</i>	Grande variedade de habitats, geralmente próximo de massas de água com uma certa cobertura herbácea, preferindo terrenos encharcados, como prados e lameiros. Durante a reprodução são encontrados em charcos, poças temporárias, ribeiros, canais de rega e lagoas costeiras.	Actividade predominantemente crepuscular, embora possa ser diurna nos dias húmidos e chuvosos. Activa todo o ano mas com menor intensidade nas épocas quentes e secas.	Varia muito em função da localização geográfica podendo ir desde os princípios do Inverno até ao final do Verão.	Demoram 3 a 5 anos a atingir a maturidade sexual. Postura pode ter entre 300 a 700 ovos
<i>Hyla meridionalis</i>	Zonas húmidas com abundante vegetação, normalmente, charcos, pântanos, lagos, lagoas e poços.	Actividade predominantemente nocturna e crepuscular, mas durante o período de reprodução pode estar activa durante o dia. Normalmente não hiberna, mas nas regiões mais quentes pode apresentar um período de estivação.	A reprodução ocorre desde Fevereiro até Abril. O amplexo é axilar e pode durar várias horas, ocorrendo dentro de água.	Demoram 2 a 3 anos a atingir a maturidade sexual. As fêmeas colocam 10 a 30 ovos de cada vez podendo depositar até 3200 ovos.
<i>Hyla arborea</i>	Zonas húmidas com abundante vegetação, normalmente, na vizinhança de charcos, cursos de água, pântanos, lagos ou lagoas.	Actividade predominantemente nocturna e crepuscular, mas em dias chuvosos ou nublados também pode apresentar actividade diurna. Nas regiões mais frias apresenta um período de hibernação.	Inicia-se na Primavera e os machos são os primeiros a migrar para os locais de reprodução. O amplexo é axilar e ocorre na água.	Demoram 3 a 4 anos a atingir a maturidade sexual. Postura pode ter entre 200 e 1250 ovos.
<i>Rana perezi</i>	Aparece sempre associada a massas de água, ocupando praticamente todos os tipos de habitats aquáticos, independentemente do biótopo circundante.	Actividade tanto nocturna como diurna. O período de hibernação varia consoante a região, podendo ocorrer de Novembro a Março.	A reprodução ocorre principalmente durante a primavera. O amplexo é axilar e é mais frequente durante a noite.	Os machos demoram 1-2 anos a atingir a maturidade sexual, e as fêmeas 2-3 anos. Postura pode ter entre 1000 e 10000 ovos.

Metodologia de amostragem

Este trabalho foi realizado em dois troços rodoviários rurais. O primeiro troço identificado como **A** (Barrocal-Mitra), pertence à estrada municipal (Barrocal «» São Brissos), o qual faz a ligação entre a estrada nacional N380 (Évora «» Alcáçovas) e o pólo universitário da Herdade da Mitra. O segundo troço de via (**B**) consiste num desvio para veículos pesados que pelas suas dimensões não possam passar pelos arcos do pequeno aqueduto do Conventinho do Bom Jesus (Mitra, Valverde) que cruza a estrada municipal (Barrocal «» São Brissos). Este troço **B**, faz uma ligação paralela entre o troço **A** e os edifícios do Hospital Veterinário no pólo universitário (figura 2). O troço **A** marcado tem 1.660km de extensão, enquanto o troço **B** é mais estreito e tem menor extensão apenas 1.00km. Embora o afastamento em paralelo não seja regular para toda a extensão das vias, podemos considerar que estas duas se encontram afastadas cerca de 300m (figura 2). Para além destas características, a estrada (**A**) corresponde a uma via usada frequentemente por que vem/vai de Évora e se dirige para a Universidade/Herdade da Mitra ou para a povoação de Valverde; ao invés, a via **B** corresponde a um desvio usado poucas vezes por veículos. Por este motivo, o delineamento experimental deste estudo assumiu à partida que o nível de tráfego de **A** é muito superior ao de **B**, sendo este último quase inexistente.

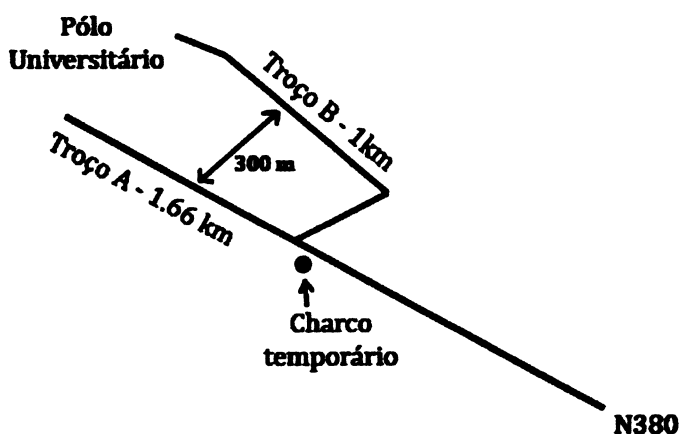


Figura 2 – Esquema ilustrativo dos dois troços rodoviários em estudo, com indicação dos respectivos comprimentos. (vide também figura 1)

De forma a obter-se uma maior eficácia na recolha de dados, e tendo em conta as características intrínsecas às espécies em estudo, o processo de amostragem foi realizado durante os meses de maior actividade destas, ou seja,

essencialmente durante o Outono e a Primavera. Para além da sazonalidade também foram consideradas outras condições. Sendo por isso realizadas as saídas de campo ao anoitecer, em dias com temperaturas relativamente amenas, de preferência não inferiores a 12°C, e com elevados níveis de humidade e alguma chuva. Algumas das saídas para a recolha de dados foram realizadas no Inverno, por se reunirem as condições acima referidas.

Entretanto, amostragem foi realizada ao longo das duas estradas, **A** e **B**, de forma alternada. Umas noites iniciou-se o percurso pela estrada principal (**A**) e outras iniciou-se pela estrada secundária (**B**). O sentido em que as vias foram percorridas também foi alternado, realizando-se umas vezes no sentido N380-Valverde e outras no sentido inverso. No total foram realizadas 15 saídas de campo (amostragem nocturna).

Sempre que houve sessões de amostragem, foram registados, no início de cada trajecto, a hora inicial, a identificação das duas vias, o sentido do percurso e, sempre que possível a temperatura atmosférica. Também foram contabilizados os veículos que circulavam nessas vias, durante essas sessões. Para além do número de veículos também foi registado o sentido no qual se dirigiam (N380/Barrocal«»Mitra/Valverde ou o inverso). Isto permitiu calcular a intensidade do tráfego para cada estrada. No final de cada trajecto foi registada novamente a hora. Os percursos foram realizados maioritariamente a pé, embora alguns dias tenham sido efectuados de carro. Ao longo destes foram identificadas as espécies encontradas. Estas foram registadas com duas letras, como está indicado na tabela 3. As espécies que não foram possíveis de identificar por restarem poucos vestígios da sua presença, foram registadas como “Outro”.

Tabela 3 – Lista de espécies possíveis de encontrar na Herdade da Mitra e a sigla usada para a sua identificação neste trabalho.

Espécie	Sigla identificativa
<i>Salamandra salamandra</i>	SS
<i>Pleurodeles waltl</i>	PW
<i>Triturus pygmaeus</i>	TP
<i>Lissotriton boscai</i>	LB
<i>Bufo bufo</i>	BB
<i>Bufo calamita</i>	BC
<i>Pelobates cultripipes</i>	PC
<i>Alytes cisternasii</i>	AC

<i>Discoglossus galganoi</i>	DG
<i>Hyla meridional</i>	HM
<i>Hyla arbora</i>	HA
<i>Rana perezi</i>	RP

Para além da identificação das espécies registaram-se os seguintes factores:

- se o indivíduo estava vivo ou morto;
- se se encontrava na estrada ou na berma;
- a faixa em que se deslocava;
- a direcção na qual se deslocava;
- as coordenadas do local da observação;
- a hora em que foi observado;
- alguma nota adicional sempre que necessário.

Após serem efectuados os registos necessários, retiraram-se os animais vivos da estrada, tendo em conta o sentido da sua deslocação, e os animais mortos foram removidos de forma a evitar recontagens.

Tratamento estatístico

Devido às características das rodovias (referidas na metodologia de amostragem) a análise estatística dos dados foi efectuada considerando estas como sendo independentes, apesar de se encontrarem ligadas.

Para o tratamento dos dados obtidos recorreu-se aos programas informáticos Microsoft Excel e SigmaStat. No Excel foram criados gráficos de forma a facilitar a observação e compreensão de alguns dados e foi realizado o cálculo do tráfego por hora para cada estrada. No programa SigmaStat foram efectuados os testes de hipóteses, paramétricos t de Student (t) ou não-paramétricos U de Mann-Whitney (MW), conforme a respectiva verificação ou não da normalidade dos dados e/ou homogeneidade de variâncias (Dytham, 1999), porque todos os dados analisados agrupavam-se apenas em dois conjuntos de amostras diferentes correspondentes aos dois troços rodoviários. Ao invés do teste t de Student, o teste U de Mann-Whitney compara as medianas de dois conjuntos sem pressupostos de distribuição normal. Ambos os testes são usados para testar se a diferença entre

dois grupos é maior do que seria de esperar caso se devesse ao acaso (Dytham, 1999).

Uma vez que as vias em estudo apresentam extensões distintas, foi necessário calibrar o número de observações de anfíbios por km, antes de proceder à análise estatística seguinte. Todavia, verificou-se que o esforço de amostragem (duração/km) não foi significativamente diferente entre os dois troços ($t=-0.0983$, $df.28$, $P=0.922$).

A análise estatística, propriamente dita, iniciou-se com o teste do qui-quadrado (X^2), para se saber se havia ou não diferenças significativas entre a proporção de anfíbios/indivíduos em cada estrada. Este teste permite determinar se dois grupos estão relacionados, medindo a probabilidade das diferenças entre eles se deverem ao acaso e partindo do pressuposto que não existem diferenças entre grupos (Dytham, 1999). Assim, procedeu-se à comparação da proporção de urodelos, sapos e rãs em cada via. Também se efectuou este teste para as espécies em cada via, mas para evitar zeros foi necessário agrupá-las em: SS; PW e TP; BB e BC; PC; Rãs.

Após esta fase, usaram-se os testes de hipóteses anteriormente referidos (t e MW) para comparar os valores totais de anfíbios (vivos + mortos) nas duas vias. Também se comparou os anfíbios vivos nas duas estradas usando o teste t e os anfíbios mortos usando o teste MW. Entretanto, recorreu-se este ultimo teste tanto para comparar entre si o tráfego total nas duas vias, como para comparar o tráfego nos diferentes sentidos em cada via.

Resultados

No conjunto das 15 saídas de campo realizadas anotaram-se um total de 438 observações de anfíbios. Porém só se observaram 9 das 12 espécies existentes na Herdade da Mitra (indicadas no gráfico 1). No conjunto das duas vias, as observações obtidas através da amostragem revelaram que 86.6% dos indivíduos identificados eram anuros (sapos e rãs), o que mostrou uma diferença considerável entre o número de anuros e urodelos que atravessam as estradas. Foi também possível salientar que 79.7% dos anuros encontrados eram sapos, tendo sido observadas relativamente poucas rãs nas vias. Todavia, nos urodelos, 96.5% são exclusivamente salamandras. No total, as espécies mais observadas foram *Bufo calamita*, 55.5%, e *Pelobates cultripipes*, 22.6% (gráfico 1).

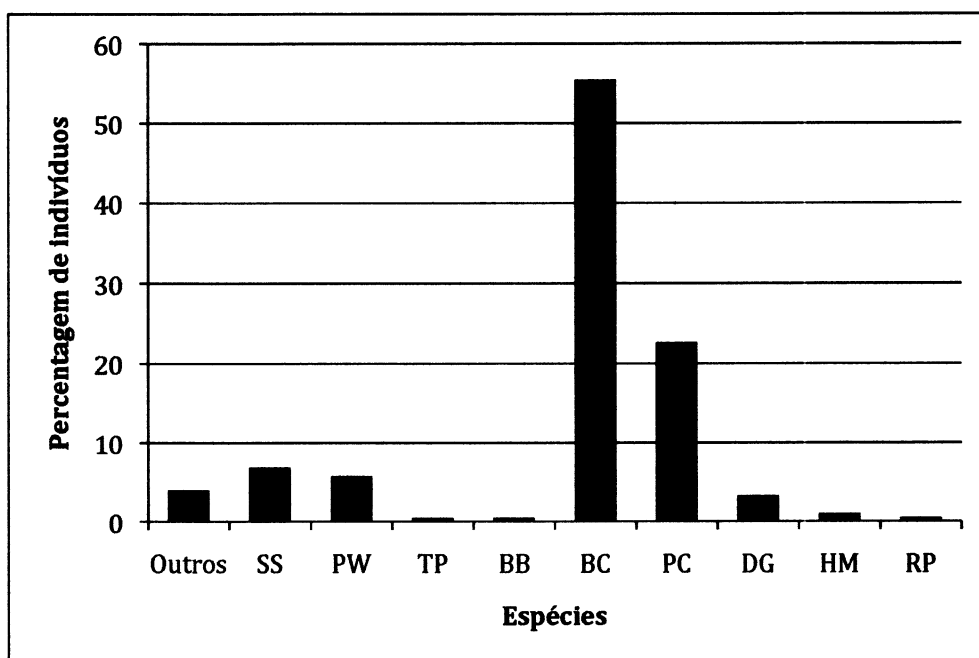


Gráfico 1 – Percentagem de indivíduos observados no total, por espécie.

Para além de se observarem as proporções das espécies no total, também se compararam estas para cada estrada. Neste caso, sempre que alguns valores eram muito reduzidos, juntaram-se os dados de PW com TP, BB com BC, e agruparam-se as rãs na mesma categoria (gráfico 2). Quanto às espécies mais observadas, BB tem um maior número de observações na via B (67%) do que na via A (54%), ao invés de PC que apresenta respectivamente 11% e 29%.

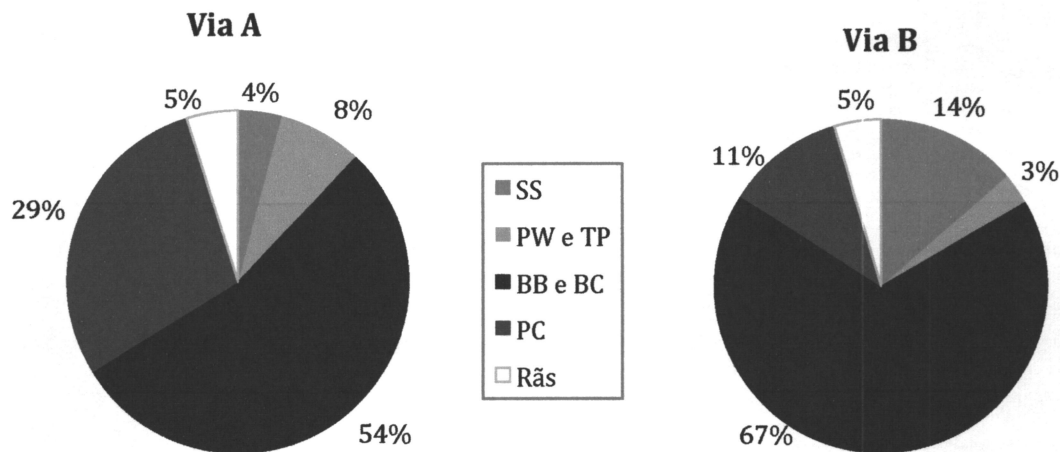


Gráfico 2 – Percentagens de indivíduos das diferentes espécies em cada via.

Não obstante as aparentes diferenças observadas nos gráficos (gráfico 2) elas não são significativas ($X^2=20.00$, $df.16$, $P=0.220$). Do mesmo modo, a proporção de urodelos, sapos e rãs nas duas estradas, não mostra diferenças significativas ($X^2=6.00$, $df.4$, $P=0.199$).

O teste t de Student mostrou que os valores totais de anfíbios (vivos + mortos) observados na via A não eram significativamente diferentes dos observados na via B ($t=1.110$, $df.28$, $P=0.276$), podendo as diferenças entre estes dever-se ao acaso. Contudo, verificou-se que na estrada A há uma mortalidade aproximada de 73% dos anfíbios, enquanto na estrada B apenas se registaram 8% de mortos (gráfico 3).

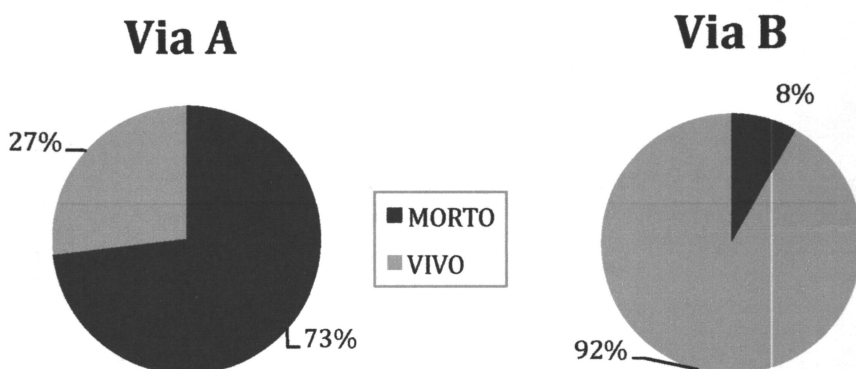


Gráfico 3 – Percentagens de anfíbios vivos e mortos em cada troço rodoviário.

Comparando os anfíbios vivos das duas vias, este teste mostrou existir uma diferença significativa ($t=-3.238$, $df.28$, $P=0.003$) entre os valores destes grupos.

Mais relevante, comparando os anfíbios mortos nas duas vias houve claramente uma diferença significativa ($T=332.00$, $n_{1,2}=15$, $P<0.001$) entre os valores destes grupos. As espécies que mais sofreram atropelamento no troço A foram, por ordem decrescente: BB (100%), DG (100%), RP (100%) – atenção o número de indivíduos observado é muito baixo - PW (74%), BC (74%), SS (67%), PC (64%) e HM (50%).

Por último constatou-se estatisticamente que as diferenças de tráfego eram de facto muito contrastantes (muito maior em A) e significativas ($T=345.00$, $n_{1,2}=15$, $P<0.001$). Assim, na via A o tráfego registado experimentalmente foi em média de 43.6 viaturas/hora e na via B somente foi de 0.5 viaturas/hora. No gráfico 4 é possível observar qual a variação deste nas duas estradas, ao longo das 15 sessões nocturnas de amostragem.

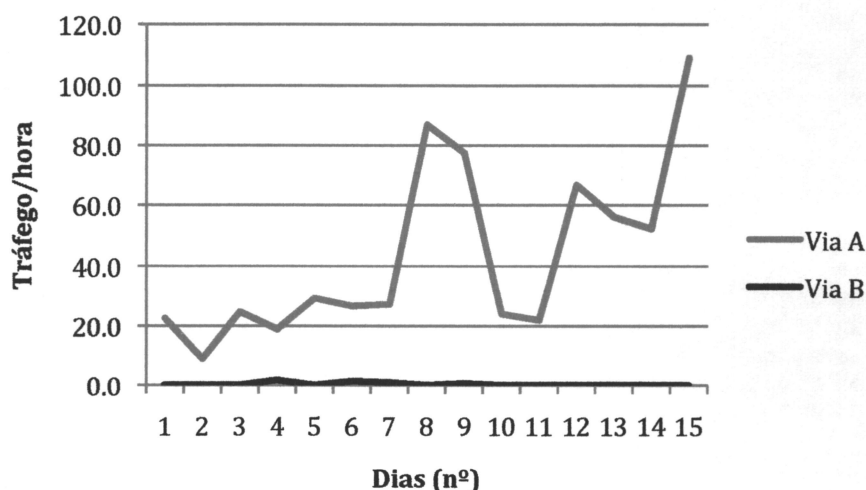


Gráfico 4 – Gráfico representativo do tráfego/hora de cada estradas, em cada dia (sessão nocturna) de amostragem.

Não obstante, quando se comparou o tráfego em ambos os sentidos (N380«Valverde) este não era significativamente diferente para as duas vias (troço A: $T=217.00$, $n_{1,2}=15$, $P=0.534$; troço B: $T=247.00$, $n_{1,2}=15$, $P=0.326$).

Discussão

De uma forma geral, este estudo esteve de acordo com o que se esperava e foi de encontro aos resultados apresentados noutros artigos científicos. Tal como era previsto, a maior proporção de animais observados na estrada corresponde a anfíbios mais terrestres, designadamente sapos e salamandras. Resultado que faz sentido, pois estes anfíbios, geralmente, apresentam uma maior dispersão diária e maiores migrações, do que as espécies mais aquáticas (rãs e tritões), tendo por isso uma probabilidade superior de encontrarem rodovias durante o seu percurso (Carr & Fahrig, 2000; Puky, 2005; Ascensão & Mira, 2006). As espécies mais observadas foram *Bufo calamita* e *Pelobates cultripes*, que são espécies relativamente abundantes na área de estudo (Malkmus, 2004; Baptista, 2007; Loureiro *et al.*, 2008) e que se reproduzem em charcos temporários semelhantes aos que se formam nas proximidades dos troços A e B. Este facto está de acordo com o trabalho de Santos *et al.* (2007) quando este refere a abundância e a qualidade dos charcos na proximidade das rodovias como factores que influenciam a mortalidade por atropelamento dos anfíbios. O facto de serem mais abundantes faz com que haja mais indivíduos em dispersão/migração e o facto dos charcos junto às estradas serem favoráveis à reprodução faz com que os animais sejam atraídos para estas zonas. Os resultados também comprovaram não haver diferenças nas proporções das espécies observadas (SS; PW+TP; BB+BC; PC; rãs) que procuram atravessar estas estradas, o que era de esperar. Devido à proximidade dos troços (300m) rodoviários e à aparente semelhança em termos paisagísticos (e.g. distância de localidades e tipos de biótopos envolventes, etc.), não existem aparentemente factores biofísicos que conduzam a uma atractividade diferencial destas espécies para uma via do que para a outra. Em conformidade, o teste de hipótese realizado, revelou não existirem diferenças significativas entre os totais de anfíbios observados nestas vias. Pela mesma razão nem se esperavam diferenças nas proporções de espécies, nem eram previstas diferenças no número total de indivíduos por quilómetro.

Segundo Hels & Buchwald (2001), a velocidade das espécies é um dos principais factores determinantes da probabilidade de atropelamento. Esta sugestão parece ser corroborada com a maior mortalidade observada em sapos (BB, PC) e em salamandras (PW e SS) neste estudo, como acima referido. Ainda

que, duas das espécies de rãs observadas (DG e RP) apresentem as maiores percentagens de atropelamento, tais valores são ilusórios porque são baseados em poucos indivíduos observados, os quais foram todos encontrados mortos. Porventura, não é alheio a esta mortalidade a existência de um charco muito próximo da estrada **A**, perto do entroncamento desta com a estrada **B** (vide acima figura 2) (Vos & Chardon, 1998; Clevenger *et al.*, 2003; Orlowski, 2006; Santos *et al.*, 2007). Este charco também pode explicar a mortalidade de relas (HM) observada já que as mesmas se reproduzem neste local (observação pessoal).

Relativamente à influência do tráfego prevê-se maior mortalidade de anfíbios nas estradas com um acréscimo do tráfego rodoviário (Kobylarz, sem data; Fahrig *et al.*, 1995; Carr & Fahrig, 2001; Hels & Buchwald, 2001; Santos *et al.*, 2007). Foi possível comprovar que existe uma diferença significativa entre a quantidade de anfíbios que morrem em **A** e em **B**, sendo as percentagens de atropelamento muito superiores na via principal. Mais relevante ainda, foi o facto de ser possível relacionar estes níveis de mortalidade com a intensidade do tráfego. Testes confirmaram que a diferença do tráfego nas duas vias era muito significativa, sendo este muito superior no troço **A**. Sabendo este resultado e que, tal como foi referido anteriormente, as vias não apresentam diferenças de proporção de espécies que as atravessam nem de biótopos envolventes, parece possível concluir que os anfíbios observados são negativamente afectados pelo tráfego rodoviário (>70%). Verificou-se portanto uma maior proporção de animais vivos na via com trânsito reduzido (**B**), e uma maior proporção de mortos na via com trânsito superior (**A**). Esta conclusão encontra-se de acordo com diversos artigos, onde foram obtidos resultados semelhantes (Kobylarz, sem data; Fahrig *et al.*, 1995; Carr & Fahrig, 2001; Hels & Buchwald, 2001; Santos *et al.*, 2007). Mas apesar dos resultados serem concordantes com os que se esperavam obter, é necessário ter em consideração que as contagens do número de veículos foram efectuadas aquando das saídas de campo para observação de anfíbios. Quer isto dizer que os valores foram obtidos durante o crepúsculo e início da noite, pelo que os valores de tráfego podem não corresponder ao nível de trânsito diário, mas apenas ao tráfego existente nas horas mais propícias para afectar as espécies de anfíbios em estudo.

Em jeito de considerações finais, deveriam ser efectuadas mais saídas de campo de forma a obter-se um número superior de dados. É importante focar que este trabalho cumpriu os pressupostos do regulamento do Mestrado em Biologia da Conservação de ser iniciado e terminado num período de 18 meses, incluindo a parte curricular. Assim sendo, apenas 6 meses estiveram disponíveis para a parte escrita da tese. Para além deste facto, as espécies em estudo neste trabalho são anfíbios pelo que a amostragem teve de ser realizada em épocas específicas correspondentes aos períodos de maior actividade das espécies. Com mais dados seria possível obter resultados mais robustos e fazer comparações que neste trabalho não foram possíveis, por alguns valores serem reduzidos. Porém, sendo o tráfego na via secundária (B) muito reduzido, é muito provável que se continuassem a obter valores baixos para a mortalidade nesta estrada. Num trabalho futuro poderia também ser interessante verificar a existência de pontos negros na estrada principal (A) ou estudar a eficácia de barreiras para anfíbios como medida mitigadora da mortalidade por atropelamento.

Referências Bibliográficas

- Almeida, N.F., Almeida, P.F., Gonçalves, H., Sequeira, F., Teixeira, J. & Almeida, F.F. 2001. Guia Fapas: Anfíbios e Répteis de Portugal. FAPAS. Câmara Municipal do Porto. Porto
- Andren, H. 1994. Effects of habitat fragmentation on birds and mammals in landscapes with different proportions of suitable habitat: a review. *Oikos*, 71:355-366
- Ascensão, F. 2001. Variação espacial e temporal da mortalidade de vertebrados por atropelamento num troço do IP2, entre Portalegre e Monforte. Relatório de estágio para a obtenção da Licenciatura em Biologia Aplicada aos Recursos Animais — Variante Terrestres. F.C.U.L. Lisboa
- Ascensão, F. & Mira, A. 2006. Impactes das vias rodoviárias na fauna silvestre - relatório final. Universidade de Évora. Évora
- Baptista, N. 2007. Mortalidade de anfíbios por atropelamento: análise de pontos negros e localização de passagens inferiores utilizando o índice de Gorelick. Dissertação para a obtenção do grau de mestre em Biologia da Conservação. Universidade de Évora. Évora
- Barata, F.T. & Mascarenhas, J.M. 2002. Preservando a memória do território. O Parque Cultural de Tourega/Valverde. Centro de Estudos de Ecossistemas Mediterrânicos (CEEM) — Universidade de Évora. Évora
- Blaustein, A.R. & Kiesecker, J.M. 2002. Complexity in conservation: Lessons from the global decline of amphibian populations. *Ecology letters* 5: 597-608
- Cabral, M.J.(coord.), Almeida, J., Almeida, P.R., Dellinger, T., Ferrand de Almeida, N., Oliveira, M.E., Palmeirim, J.M., Queiroz, A.I., Rogado, L. & Santos-Reis, M. 2006. *Livro vermelho dos vertebrados de Portugal*. 2ª ed. Instituto da Conservação da Natureza/ Assírio & Alvim. Lisboa. 660 pp.
- Carr, L.W. & Fahrig, L. 2000. Effect of road traffic on two amphibian species of differing vagility. *Conservation Biology* 15:1071-1078
- Collinge, S. 1996. Ecological consequences of habitat fragmentation: implications for landscape architecture and planning. *Landscape and Urban Planning*, 36:

- Dias, G. 2008. Environmental influence of the “montado” biotopes on the herpetofaunal distribution: a case study of Herdade da Mitra — Trabalho realizado para a conclusão da Licenciatura em Biologia – Variante de Biologia. Universidade de Évora. Évora
- Donaldson, A. & Bennett, A. 2004. Ecological effects of roads: Implications for the internal fragmentation of Australian parks and reserves. *Parks Victoria Technical Series* No. 12. Parks Victoria. Melbourne
- Dytham, C. 1999. Choosing and using statistics: a biologist's guide. Blackwell Science. Oxford
- Fahrig, L., Pedlar, J.H., Pope, S.E., Taylor, P.D. & Wegner, J.F. 1995. Effects of road traffic on amphibian density. *Biological Conservation* 73: 177-182
- Forman, R.T.T. & Alexander, L.E. 1998. Roads and their major ecological effects. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29; 207-31
- Gardner, T. 2001. Declining amphibian populations: a global phenomenon in conservation biology. *Animal Biodiversity and Conservation*, 24.2
- Gibbs, J.P. & Shriver, G. 2005. Can road mortality limit populations of pool-breeding amphibians?. *Wetlands Ecology and Management* 13:281-289
- Groom, M.J., Meffe, G.K. & Carroll, C.R. 2006. Principles of Conservation Biology, Third edition. Sinauer Associates. Sunderland.
- Hels, T. & Buchwald, E. 2001. The effect of road kills on amphibian populations. *Biological Conservation* 99: 331-340
- INMG 1991. O Clima de Portugal. Normais climatológicas da região de Alentejo e Algarve, correspondentes a 1951 – 1980. Fascículo XLIX, vol. 4 — 4ª região. Instituto Nacional de Meteorologia e Geofísica. Lisboa.
- Iuell, B., Bekker, G.J., Cuperus, R., Dufek, J., Fry, G., Hicks, C., Hlavac, V., Keller, V., Rosell, C., Sangwine, T., Tørsløv, N. & Wandall, B. (Eds.) 2003. Wildlife and Traffic: A European Handbook for Identifying Conflicts and Designing Solutions. *European Co-operation in the Field of Scientific and Technical Research*.
- Kobylarz, B. sem data. The effect of road type and traffic intensity on amphibian

- road mortality. *Journal of Service Learning in Conservation Biology* 1:10-15
- Lich, L.E. & Grant, K.P. 1997. The Effects of Ultraviolet Radiation on the Biology of Amphibians. *American Zoologist*, 37:137-145
- Loureiro, A., Ferrand de Almeida, N., Carretero, M.A. & Paulo, O.S. 2008. Atlas de anfíbios e répteis de Portugal. Instituto da Conservação da Natureza e da Biodiversidade (ICNB). Lisboa
- Malkmus, R. 2004. Amphibians and Reptiles of Portugal, Madeira and the Azores-Archipelago. Koeltz. 447pp.
- Orlowski, G. 2006. Spacial distribution and seasonal pattern in road mortality of the common toad *Bufo bufo* in an agricultural landscape of south-western Poland. *Amphibia-Reptilia*: 1-7
- Puky, M. 2005. Amphibian road kills: a global perspective. IN: Proceedings of the 2005 International Conference on Ecology and Transportation. Eds. Irwin CL, Garret P, McDermott KP. Center for Transportation and the Environment, North Carolina State University, Raleigh, NC: pp. 325-338
- Rebollo, T.A. (coord.), Chamorro, J.P., Rebollo, D.A. & Estévez, J.A.H. 2006. Anfíbios y Reptiles de la Península Ibérica e Islas Baleares. Ediciones Jaguar. Madrid.
- Roy, D. 2002. Amphibians as environmental sentinels. *Journal of Biosciences*. Vol.27 No.3. Índia
- Santos, X., Llorente, G.A., Montori, A., Carretero, M.A., Franch, M., Garriga, N. & Richter-Boix, A. 2007. Evaluating factors affecting amphibian mortality on roads: the case of the Common Toad *Bufo bufo*, near a breeding place. *Animal Biodiversity and conservation*, 30.1: 97-104.
- Seiler, A. 2001. Ecological effects of roads — a review. Swedish University of Agricultural Sciences
- Silva, C. & Marques, R. 2007. Parâmetros que influenciam a Mortalidade por Atropelamento de Anfíbios em Rodovias. Sinopse e Revisão de Conhecimentos. Trabalho realizado no âmbito da disciplina de Conservação da Herpetofauna Ibérica. Universidade de Évora.
- Vos, C.C. & Chardon, J.P. 1998. Effects of habitat fragmentation and road density on the distribution pattern of the moor frog *Rana arvalis*.



- Wind, E. 1999. Effects of habitat fragmentation on amphibians: what do we know and where do we go from here?. *Proceedings of a Conference on the Biology and Management of Species and Habitats at risk*. Kamloops, B.C., 15-19
- Young, A. & Boyle, T. 1996. The populations genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends in Ecology & Evolution*, 11: 413-418

Anexo

Tabela 1 - valores observados para cada espécie nos troços A e B, com indicação do número de mortos, de vivos e total. Os valores do troço A não estão calibrados por km.

Espécie	Troço A			Troço B			Grand Total
	Mortos	Vivos	Total (vivos+mortos)	Mortos	Vivos	Total (vivos+mortos)	
Outros	16	0	16	1	0	1	17
SS	8	4	12	3	15	18	30
PW	17	6	23	0	2	2	25
TP	0	0	0	0	2	2	2
BB	1	0	1	0	1	1	2
BC	115	40	155	6	82	88	243
PC	54	30	84	1	14	15	99
DG	8	0	8	0	6	6	14
RP	2	0	2	0	0	0	2
HM	2	2	4	0	0	0	4
Grand Total	223	82	305	11	122	133	438

Tabela 2 – tabela com a duração do percurso, número de anfíbios vivos, número de mortos e total de observados (vivos + mortos) em cada estrada (A e B), para cada dia. Valores de animais observados calibrados por km.

Data	Duração/min A	Duração/min B	Vivos A	Vivos B	Mortos A	Mortos B	Total A	Total B
2007-10-01	24.1	18	0.0	3	2.4	0	2.4	3
2007-10-01	24.1	18	1.8	8	4.2	0	6.0	8
2007-10-02	20.5	10	9.6	6	12.0	2	21.7	8
2007-10-03	21.1	33	1.8	10	1.8	0	3.6	10
2007-10-04	27.1	21	0.6	4	1.2	0	1.8	4
2007-10-24	27.1	26	2.4	3	1.8	0	4.2	3
2007-11-18	39.8	43	12.0	13	25.9	2	38.0	15
2007-11-19	36.1	25	0.6	4	5.4	1	6.0	5
2008-02-18	57.8	37	3.0	4	4.8	2	7.8	6
2008-04-08	18.1	46	4.8	12	3.0	1	7.8	13
2008-09-28	31.3	37	4.2	8	14.5	0	18.7	8
2008-10-07	36.7	24	1.2	3	4.2	0	5.4	3
2008-10-30	38.0	41	1.8	13	23.5	0	25.3	13
2009-01-23	33.1	49	3.6	15	19.3	0	22.9	15
2009-01-30	30.1	43	1.8	16	10.2	3	12.0	19

Tabela 3 - valores de tráfego contabilizados por dia, com indicação do tráfego em cada sentido e do tráfego total, para cada trecho rodoviário.

Data	Traf A N380-Valverde	Traf B N380-Valverde	Traf A Valverde-N380	Traf B Valverde-N380	Traf A total	Traf B total
2007-10-01	0.2	0.0	0.2	0.0	0.4	0.00
2007-10-01	0.1	0.0	0.1	0.0	0.2	0.00
2007-10-02	0.1	0.0	0.3	0.0	0.4	0.00
2007-10-03	0.1	0.0	0.2	0.0	0.3	0.03
2007-10-04	0.2	0.0	0.3	0.0	0.5	0.00
2007-10-24	0.2	0.0	0.2	0.0	0.4	0.04
2007-11-18	0.2	0.0	0.3	0.0	0.5	0.02
2007-11-19	0.7	0.0	0.8	0.0	1.5	0.00
2008-02-18	0.5	0.0	0.8	0.0	1.3	0.03
2008-04-08	0.2	0.0	0.2	0.0	0.4	0.00
2008-09-28	0.2	0.0	0.2	0.0	0.4	0.00
2008-10-07	0.5	0.0	0.6	0.0	1.1	0.00
2008-10-30	0.4	0.0	0.5	0.0	0.9	0.00
2009-01-23	0.4	0.0	0.5	0.0	0.9	0.00
2009-01-30	1.0	0.0	0.8	0.0	1.8	0.00